

PROTEINI GLUTENA – DETERMINANTA KVALITETA PŠENICE

Desimir Knežević¹, Aleksandar Paunović², Mirjana Menkovska³, Pavle Mašković², Danijela Kondić⁴, Milica Zelenika², Milomirka Madić², Veselinka Zečević³

Izvod: Gluten je kompleks glijadina i glutenina, koji ima značajnu ulogu u determinaciji osobina tehnološkog kvaliteta semena pšenice i gotovih proizvoda, a, može biti uzročnik alergijskih reakcija i nekih oboljenja probavnog trakta kod imunoosetljivih individua. U ovom radu je izučavano variranje sadržaja suvog glutena kod 10 genotipova pšenice, volumen hleba, sadržaj proteina, aleli glijadinskih alela sa 1A i 6A hromozoma i aleli sa visoko-molekularnih glutenina na sva tri *Glu-1* lokusa. Ustanovljeno je variranje: sadržaja suvog glutena u rasponu od 22,33% (G-3089) do 33,18% (Beogradjanka), sadržaja proteina od 10,80% (G-3089) do 14,80% (G-3617) i volumen hleba od 360ml (G-3089) do 560ml (G-3617). Na lokusu *Gli-A1* identifikovano je 3 alela (*a, b, f*), na *Gli-A2* je 5 alela (*b, g, e, l, k*). Determinisane su različite komponente visokomolekularnih glutenina i identifikovani aleli za te komponente. Ustanovljeno je prisustvo heterogenosti sorti na *Glu-A1* kod dve sorte (Aurora i Kavkaz) i na *Glu-D1* kod sorte Banačanka 2. Identifikovano je po tri različita lalala na *Glu-A1* (*a, b, c*) i *Glu-D1* (*a, c, d*) i 5 alela na *Glu-B1* (*a, b, c, d, h*), a ustanovljeno je 9 tipova kompozicije gluteninskih alela.

Ključne reči: gluten, pšenica, aleli, kvalitet, oplemenjivanje

Uvod

Variranje sadržaja i kvaliteta glutena kod genotipa pšenice je uslovljeno genetičkim faktorima, uslovima spoljašnje sredine i interakcije genotipa i spoljašnje sredine (Naeem et al., 2012). Proteini glutena su glijadini i glutenini koji predstavljaju oko 80% od ukupnog sadržaja proteina u brašnu. Kompozicija proteina glutena se nalazi pod kontrolom *Gli*- alela sa lokusa na kratkim kracima hromozoma 1A, 1B, 1D, 6 A, 6B i 6D, kao i *Glu*- alela sa lokusa na dugim kracima 1A, 1B, 1D hromozoma (Sozinov i Poperelya, 1980). Sadržaj glutena, zavisi od temperature, padavina, kao i doze i načina primene azotnih đubriva u toku vegetacionog razvića, a posebno u periodu posle cvetanja, u fazi nalivanja zrna (Lookhart i sar., 2001). Sadržaj proteinskih komponenti glutena se povećava pri ishrani većom količinom azotnim đubrivom, i u uslovima visokih temperatura, koje istovremeno uslovljavaju prekid sinteze skroba, što ima za rezultat i veći sadržaj glutena (Altenbach, 2012; Hurkman et al., 2011). Pšenični gluten predstavlja protein-lipid-ugljenohidratni kompleks, formiran kao rezultat specifičnih

¹Univerzitet u Prištini, Poljoprivredni fakultet, Kosovska Mitrovica -Lešak, Kopaonička bb, 38219 Lešak, Kosovo i Metohija, Srbija, e-dresa:deskoa@ptt.rs

²Univerzitet u Kragujevcu, Agronomski fakultet, Čačak, Cara Dušana 34, 32000 Čačak, Srbija;

³Univerzitet Ćirilo i Metodije, Institut za stočarstvo, Departman Tehnologija hrane i Biotehnologija, Skopje, Makedonija

⁴Univerzitet u Banja Luci, Poljoprivredni fakultet, Banja Luka, Bulevar Vojvode Petra Bojovića 1A, 78000 Banja Luka, Republika Srpska Bosna i Hercegovina

⁵Univerzitet John Naissbit, Beograd, Fakultet za biofarming, Bačka Topola, Marsala Tita 2, Srbija

kovalentnih i nekovalentnih interakcija između komponenti brašna tokom zamesa testa (Békés, 2012). Mala rastvorljivost proteina glutena u vodi uslovljena je niskim sadržajem aminokiselina sa jonizujućim bočnim lancima, kao i visokim sadržajem glutamina i nepolarnih aminokiselina prolina i glicina (Delcour i sar., 2012). U dodiru sa vodom gluten bubri, obrazuje se fina mrežasta struktura stabilizovana disulfidnim vezama, vodoničnim vezama i hidrofobnim interakcijama i ima važnu ulogu u određivanju kvaliteta fizičkih osobina testa (rastegljivost, elastičnost), sposobnosti zadržavanja gasa i pecivnih osobina. Gluten pšenice karakteriše visoka koncentracija inter- i intra-disulfidnih veza između proteina (α/β -, i γ -gliadina) u čemu glavnu ulogu ima aminokiselina cistein (Zaidel et al. 2008). Kvalitet hleba i snaga testa od pšenice je uslovljena kompozicijom i proporcionalnim sadržajem glijadina i glutenina i distribucijom polimernih proteina.

Gluten može biti toksičan i kod približno 1% ljudske populacije je uzročnik alergije, bolesti gastrointestinalnog trakta (celijakija) kod osoba sa smanjenim imunitetom (Kagnoff, 2007). Glavne proteinske komponente glijadini i glutenini imaju visok sadržaj aminokiselina prolina oko 20% i glutaminske kiseline oko 40% što doprinosi otežanom varenju glutena u gastrointestinalnom traktu (Skovbjerg i sar., 2004), jer ljudi prirodno nemaju dovoljno endopeptidaza za cepanje veze između prolina i glutamina. Pri tom nastaju mnogi polipeptidi, koji kod imunogeno podložnih osoba uzrokuju celijakiju.

Cilj rada je izučavanje varijabilnosti sastava i sadržaja glutena i volumena hleba kod genotipova pšenice u različitim uslovima gajenja.

Materijal i metode rada

Seme 10 genotipova pšenice je korišćeno u analizi kompozicije glijadina i visokomolekularnih glutenina. Uradjena je ekstrakcija glijadina i glutenina po metodi (Sozinov i Poperelja, 1980). Glijadinski aleli su identifikovani prema metodi (Metakovsky i sar., 1991) a identifikacija *Glu-1* alela je uradjena SDS PAGE (Payne, 1987). Seme za ocenu osobina tehnološkog kvaliteta je dobijeno u dve godine istraživanja na oglednom polju Centra za strna žita Kragujevac. Sadržaj glutena je određen ispiranjem testa sa 2% slanim rastvorom, koji je osušen i izmeren na tehničkoj vagi, čija vrednost u proporciji sa polaznom masom uzorka predstavlja procentualni udeo suvog glutena. Pečenje i ocena zapremine hleba je uradjena po standardnoj laboratorijskoj metodi.

Vremenski uslovi u toku eksperimenta

U periodu eksperimentalnog istraživanja su varirali vremenski uslovi temperature i padavine. Na osnovu režima i prosečnih vrednosti temperature i atmosferskih padavina na mesečnom nivou, dve eksperimentalne godine su se razlikovale. Takodje, vremenski uslovi u dve eksperimentalne godine su se razlikovali u poredjenju sa prosečnim vrednostima desetogodišnjeg perioda (tab. 1).

Tokom vegetacionog perioda u prvoj godini istraživanja prosečna temperatura je bila (8.3°C) neznatno manja nego prosečna vrednost tokom desetogodišnjeg perioda (8.5°C) a značajno manja nego u drugoj eksperimentalnoj godini (11.0 °C) a prosečna količina padavina (533.7mm) je bila značajno veća nego u drugoj godini istraživanja

(369.9mm) kao i u odnosu na desetogodišnji prosek padavina (417.8mm). U drugoj godini prosečna vrednost temperature (11.0°C) je bila veća nego u prvoj godini istraživanja i veća od prosečne vrednosti za period od deset godina. Ukupna količina padavina (369.9mm) u drugoj eksperimentalnoj godini bila je značajno manja nego u prvoj godini i u odnosu nego za desetogodišnji prosek (417.8mm).

Tabela 1. Prosečne mesečne temperature i ukupna mesečna količina padavina
Table 1. Monthly and mean temperatures and monthly and cumulative precipitation

Mesec-Month	Temperatura °C -Temperature °C			Padavine (mm) -Precipitation (mm)		
	2005/06	2006/07	1990-2000	2005/06	2006/07	1990-2000
October	11.5	13.3	11.8	49.0	16.7	61.0
November	5.6	7.6	6.4	54.8	13.7	44.3
December	3.3	3.5	1.7	47.1	51.9	44.6
January	-1.7	6.1	-0.1	27.9	45.3	30.0
February	1.5	6.3	2.6	38.1	32.1	29.9
March	5.5	9.1	5.9	116.0	62.9	33.2
April	12.7	12.1	11.6	86.3	3.6	52.9
May	16.4	18.2	16.4	29.6	118.0	52.6
June	19.7	22.8	20.4	84.8	25.3	69.3
Prosek godini ⁻¹ Average year ⁻¹	8.3	11.00	8.5	59.3	41.1	46.4
Ukupno - Total	74.4	99.0	76.7	533.7	369.9	417.8

Rezultati istraživanja i diskusija

Vrednosti sadržaja suvog glutena kod 10 genotipova su bile različite, zavisno od genotipa i uslova u godini gajenja. Sadržaj glutena je varirao od 21,40% (G-3089) do 32,40% (Aurora) u prvoj godini istraživanja, a u drugoj godini istraživanja od 22,33% (G-3089) do 33,18% (Beogradjanka). Sadržaj sirovih proteina je varirao od 10,80% (G-3089) do 14,20% (G-3617) u prvoj godini a u drugoj od 11,10% (G-3089) do 14,80% (G-3617). Volumen hleba je varirao od 360ml (G-3089) do 560ml (G-3617) u prvoj i od 380ml (G-3089) do 560ml (G-3617) u drugoj godini istraživanja (tabela 2).

Variranje vrednosti sadržaja glutena, sadržaja proteina, zavisi od genetičkih faktora, faktora spoljašnje sredine i interakcije genotipa i faktora spoljašnje sredine (Altenbach, 2012). Plodnost zemljišta, vreme i doza primene đubriva, količina padavina i vrednosti temperature u fazi nalivanja zrna pšenice imaju značajan uticaj na sadržaj i kvalitet proteina (Hurkman i Wood, 2011; Knežević i sar., 2016a). Temperatura predstavlja značajan faktor u rastu i razviću biljke, tako da optimalna vrednost za razvoj biljke pšenice je oko 16°C, a pri značajno povišenim temperaturama se ubrzava sazrevanje i menja sadržaj i sastav gluten, što utiče na kvalitet testa (Moldestad i sar., 2011).

Kod izučavanih sorti na lokusu *Gli-A1* identifikovano je tri alela (*a*, *b*, *f*) koji kodiraju neke od γ - i ω glijadina, a na *Gli-A2* je pet alela (*b*, *g*, *e*, *l*, *k*) koji kontrolišu sintezu nekih od α - i β - glijadina. Polimorfizam *Gli*- alela je nadjen u drugim istraživanjima (Menkovska i sar., 2002; Djukić i sar., 2011). Takođe, su identifikovani aleli za HMW glutenine i to na *Glu-A1* (*a*, *b*, *c*) i *Glu-D1* (*a*, *c*, *d*) i 5 alela na *Glu-B1* (*a*, *b*, *c*, *d*, *h*). Kod 7 sorti je nadjeno prisustvo kombinacije alela **b** koji kodira komponentu 2* sa *Glu-A1* i alela

d koji kodira subjedinice 5+10 sa *Glu-D1*, kod kojih su visoke vrednosti sadržaja glutena i volumena hleba. Kod 5 sorti identifikovan je alel *c* koji kodira subjedinice 7+9 sa *Glu-B1* lokusa. Ovi aleli glutenina, imaju pozitivnu vezu sa osobinama kvaliteta brašna, testa i hleba. U analizi 10 sorti je nađeno 9 različitih kombinacija gluteninskih alela što ukazuje na genetičku divergentnost. (tabela 2).

Sastavni proteini glutena, glijadini i glutenini se razlikuju u determinaciji tehnološkog kvaliteta (Knezevic i sar., 2016b). Glijadini sa nekovalentnim međusobnim interakcijama i sa molekulima glutenina, imaju veliki doprinos za povećanje viskoznosti i elastičnosti testa, a glutenini u velikoj meri određuju elastičnost glutena i stvaranje većih polimera glutenina (Wrigley et al., 2006; Li i sar., 2008). Mala elastičnost glutena, kao i ekstremno velika elastičnost glutena je povezana sa malom zapreminom hleba, usled otežanog širenja ćelija gasa i razvoja testa. Pored proteinskih komponenti na funkcionalne osobine brašna utiču i druge komponente kao što su lipidi, skrob i neskrobni polisaharidi u međusobnim interakcijama (Békés, 2012).

Tabela 2. Variranje *Gli-A1*, *Gli-2* i *Glu-1* alela, sadržaja glutena i zapremine hleba kod genotipova pšenice u različitim uslovima gajenje

Table 2. Variation *Gli-A1*, *Gli-2* and *Glu-1* alleles composition, content of gluten and bread volume in wheat genotypes under different growing conditions

Genotip – <i>Genotypes</i>	Gli aleli- <i>Gli alleles</i>		Podjedinice glutenina <i>High molecular weight glutenin subunits</i>	Glu-1 aleli <i>Glu-1 alleles</i>	Suvi gluten % - <i>Dry gluten %</i>		Sadržaj proteina u zrnju % - <i>Grain protein content %</i>		Zapremina hleba (ml) <i>Loaf volume (ml)</i>	
	<i>A1</i>	<i>A2</i>			2005/06	2006/07	2005/06	2006/07	2005/06	2006/07
Aurora	<i>b</i>	<i>b</i>	N 7+9 5+10 2* 7+9 2+12	<i>ccd bca</i>	32.40	33.00	13.80	14.40	510	520
Banačanka 2	<i>b</i>	<i>e</i>	2* 7+9 5+10 2* 7+9 2+12	<i>bcd bca</i>	30.20	29.60	12.40	12.50	460	450
Beogradjanka	<i>b</i>	<i>g</i>	2* 7+9 5+10	<i>bcd</i>	32.35	33.18	13.20	13.60	520	540
Brimstone	<i>f</i>	<i>l</i>	N 6+8 2+12	<i>cda</i>	30.64	31.22	12.40	11.80	410	400
Baranjka	<i>b</i>	<i>e</i>	1 6+8 2+12	<i>ada</i>	27.35	28.60	12.00	12.60	400	420
G-3046	<i>b</i>	<i>k</i>	2* 7+8 5+10	<i>abd</i>	30.60	32.24	12.40	13.10	480	490
G-3089	<i>f</i>	<i>e</i>	N 7 4+12	<i>cac</i>	21.40	22.33	10.80	11.10	360	380
G-3617	<i>a+b</i>	<i>e</i>	1 14+15 5+10	<i>ahd</i>	30.00	32.80	14.20	14.80	560	560
Kavkaz	<i>b</i>	<i>b</i>	2* 7+8 5+10 N 7+9 5+10	<i>bbd ccd</i>	31.53	32.86	12.60	13.40	520	500
Macvanka 1	<i>b</i>	<i>g</i>	N 7+9 5+10	<i>ccd</i>	27.82	30.86	12.40	12.20	420	420

Zaključak

Kod izučavanih sorti je ustanovljeno variranje sadržaja glutena, varijabilnost sastavnih proteina glijadina i glutenina i polimorfnost *Gli-A1*, *Gli-A2* i *Glu-1* alela, kao i sadržaj proteina i zapremine hleba. Genotipovi koji su bili nosioci alela *Glu-A1b* za

podjedinicu 2*, *Glu-D1d* za podjedinice 5+10, u kombinaciji *Gli-A1b*, i različitim alelim na *Gli-A2* su imale veće vrednosti sadržaja glutena, proteina i zapremine hleba.

Od izučavanih geotipova pšenice najmanji sadržaj glutena je nadjen kod G-3089 (21,40% i 22,33%). Ovaj genotip je poželjan u ishrani kod senzitivnih osoba na gluten sa izraženim alergijskim reakcijama i celijakijom i može se koristiti u oplemenjivanju na niži sadržaj glutena. Neophodno je usmeriti istraživanja u cilju korigovanja agronomskih mera i optimalne ishrane azotnim đubrivom, koji ima značajan uticaj na sadržaj proteina, na koji način bi se mogla utvrditi “toksičnost” pšenice, a u cilju procene efekta svih faktora koji doprinose neželjene tegobe pri ishrani pšenicom.

Napomena: Istraživanja su deo projekta TR 31092 „Izučavanje genetičke osnove poboljšanja prinosa i kvaliteta strnih žita u različitim ekološkim uslovima”, koji finansira Ministarstvo Prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije

Literatura

- Altenbach, S. B. (2012). New insights into the effects of high temperature, drought and post-anthesis fertilizer on wheat grain development. *J. Cereal Science*, 56, 39-50.
- Békés, F. (2012). New Aspects in Quality Related Wheat Research:1. Challenges and Achievements. *Cereal Research Communications*, 40, 159–184.
- Delcour, J. A., Joye, I. J., Pareyt, B., Wilderjans, E., Brijs, K., Lagrain, B. (2012). Wheat gluten functionality as a quality determinant in cereal-based food products. *Ann Rev. of Food Sci. and Techn.*, 3, 469–492.
- Djukić, N., Knežević, D., Horvat, D., Živančev, D., Torbica, A. (2011). Similarity of cultivars of wheat (*Tr. durum*) on the basis of composition of gliadin alleles. *Genetika*. 43, 3, 527-536.
- Hurkman, W. J., Wood, D. F. (2011). High temperature during grain fill alters the morphology of protein and starch deposits in the starchy endosperm cells of developing wheat (*Tr. aestivum* L.) grain. *J.Agric.&Food Chem.* 59, 4938-4946.
- Li, Y., Zhu, R., Tian, J. (2008). Influence of wheat protein contents and fractions on dough rheological properties as determined by using a reconstitution method. *Agric. Sci. in China*, 7, 4, 395-404.
- Lookhart, G., Zečević Veselinka, Bean, S.R., Knežević, D. (2001). Breeding of Small Grains for Quality Improvement. In: Monograph Genetic and Breeding of Small Grains. (eds. S.Quarrie et al) pp. 349-375.
- Kagnoff, M.F. (2007). Celiac disease: pathogenesis of a model immunogenetic disease. *J. Clin. Invest.* 117, 1, 41–49.
- Knežević, D., Maklenović, V., Kolarić, Lj., Mićanović, D., Šekularac, A., Knežević, J. (2016a): Variation and inheritance of nitrogen content in seed of wheat genotypes (*T. aestivum* L.). *Genetika*. 48,2,579-586
- Knezevic, D., Rosandic, A., Kondic, D., Radosavac, A., Rajkovic, D. (2016b): Impact of quality of grain wheat on food value. *Növénytermelés*, 65:99-102.
- Menkovska, M., Knežević, D., Ivanoski, M. (2002): Protein allelic composition, dough rheology, and baking characteristics of flour mill streams from wheat cultivars with known and varied baking qualities. *Cereal Chemistry*. 79: 5. 720-725.
- Metakovsky, E. V., Knežević, D., Javornik Branka (1991): Gliadin allele composition of Yugoslav winter wheat cultivars. *Euphytica*. 54:285-295.
- Moldestad, A., Mosleth Fergestad, E., Hoel, B., Oddvar Skjelvag, A., Kjersti Uhlen, A. (2011). Effect of temperature variation during grain filling on wheat gluten resistance. *J. Cer. Sci.*, 53, 347-354.
- Naeem, H. A., Paulon, D., Irmak, S., MacRitchie, F. (2012). Developmental and environmental effects on the assembly of glutenin polymers and the impact on grain quality of wheat. *J. Cer. Sci.*, 56, 51-57.

- Payne, P. (1987). Genetics of wheat storage proteins and effect of allelic variation on bread-making quality. *Ann.Rev.Plants Physiol.*,38, 141-153.
- Skovbjerg, H., Koch, C., Anthonsen, D., Sjostrom, H. (2004). Deamidation and cross-linking of gliadin peptides by transglutaminases and the relation to celiac disease. *Biochim. Biophys. Acta.*, 1690, 220–230.
- Sozinov, A.A., Poperella F.A. (1980). Genetic Classification of Prolamins and Its Use for Plant Breeding. *Annales de Technologie Agricole*, 28, 229-245.
- Zaidel, A.D.N., Chin, N.L., Abdul Rahman, R., Karim, R. (2008). Rheological characterization of gluten from extensibility measurement. *Journal of Food Engineering*, 86, 549-556
- Wrigley, C.W., Bekes, F., Bushuk, W. (2006). Gluten: a balance of gliadin and glutenin. In: Wrigley C, Bekes F, Bushuk W (eds) Gliadin and glutenin. The unique balance of wheat quality. AACC Int Press, St Paul, pp. 3–32

GLUTEN PROTEINS - DETERMINANT OF WHEAT QUALITY

Desimir Knežević¹, Aleksandar Paunović², Mirjana Menkovska³, Pavle Mašković², Danijela Kondić⁴, Milica Zelenika², Milomirka Madić², Veselinka Zečević³

Abstract

Gluten is complex of gliadina and glutenins which play main role in determining of technological quality properties of wheat seeds and wheat products, but may be cause of allergy and celiac diseases in imune sensitive people. In this analysis of 10 wheat genotypes were established differences for gluten content, protein content loaf volume in two year of studies under different conditions. The highest gluten content in first year had Aurora (32.40%) and the lowest had G-3089 (21.40%), while in second year the highest gluten content had Beogradjanka (33.18%) and the lowest (22.33%) was in G-3089. In both year of experiment, the genotype G-3617 had the highest protein content (14.210%; 14.80%), loaf volume (560ml; 560ml) while genotypes G-3089 the lowest value of protein content (10.80%; 11.10%) and loaf volume (360ml; 380ml). In analysed wheat genotypes were identified 3 alleles (**a**, **b**, **f**) at *Gli-A1* locus and 5 alleles (**b**, **g**, **e**, **l**, **k**) at *Gli-A2* locus. Also, identified 3 alleles (**a**, **b**, **e**) at *Glu-A1*, 3 (**a**, **c**, **d**) at *Glu-D1* and 5 alleles (**a**, **b**, **c**, **d**, **h**) at *Glu-B1*. The genotypes which possessed the alleles *Glu-A1b*, *Glu-D1d*, in combination *Gli-A1b*, had higher levels of gluten content, protein and bread volume.

Key words: gluten, wheat, alleles, quality, breeding

¹ University of Priština, Faculty of Agriculture, Kosovska Mitrovica - Lesak, Kopaonicka bb, 38219 Lesak, Kosovo and Metohija, Serbia, e-dresa:deskoa@ptt.rs

¹University of Priština, Faculty of Agriculture, Kosovska Mitrovica - Zubin Potok – Lesak, Kopaonicka bb, 38219 Lesak, Kosovo i Metohija, Srbija, e-dresa:deskoa@ptt.rs

²University of Kragujevac, Faculty of Agronomy Čačak, Cara Dušana 34, Čačak, Serbia (aco@kg.ac.rs)

³Ss. Cyril and Methodius University, Inst.of Animal Sci., Dept. Food Techn.&Biotechn, Skopje, Macedonia

⁴University of Banja Luci, Faculty of Agriculture, Banja Luka, Bulevar Vojvode Petra Bojovića 1A, 78000 Banja Luka, Republic of Srpska, Bosnia and Herzegovina

⁵University John Naissbit, Belgrade, Faculty for Biopharming, Bačka Topola, Marsala Tita 2 Serbia...